

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-114687

(P2001-114687A)

(43) 公開日 平成13年4月24日 (2001. 4. 24)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	デマコト* (参考)
A 6 1 K 31/353		A 6 1 K 31/353	4 C 0 8 6
A 6 1 P 35/00		A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 8
// A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	C

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平11-290725

(22) 出願日 平成11年10月13日 (1999. 10. 13)

(71) 出願人 591039137

三井農林株式会社

東京都中央区日本橋室町三丁目 1 番20号

(72) 発明者 坂本 和子

アメリカ合衆国 オハイオ州 クリーベラ

ンド市 コーネル ロード 2085番地306

(72) 発明者 ハッサン ムクタ

アメリカ合衆国 オハイオ州 クリーベラ

ンド市 リッチモンドハイツ ダンバリー

レーン 326番地

(74) 代理人 100074077

弁理士 久保田 藤郎 (外 1 名)

最終頁に続く

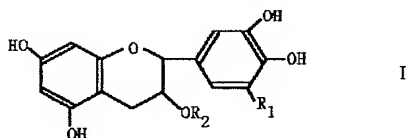
(54) 【発明の名称】 抗癌剤

(57) 【要約】

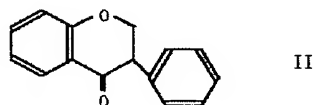
【課題】 優れた効果を有し、かつ副作用が少ない抗癌剤を提供すること。

【解決手段】 一般式 I で表わされるカテキン類と一般式 II で表わされるイソフラボン類を有効成分とする抗癌剤。

【化 1】



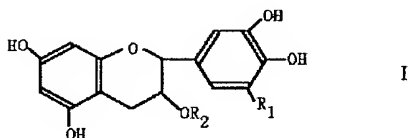
【化 2】



## 【特許請求の範囲】

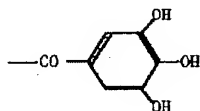
【請求項1】 一般式Iで表わされるカテキン類と一般式IIで表わされるイソフラボン類を有効成分とする抗癌剤。

## 【化1】



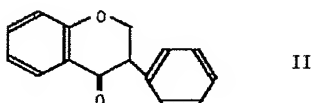
(式中、R<sub>1</sub> はH又はOHを表わし、R<sub>2</sub> はH又は

## 【化2】



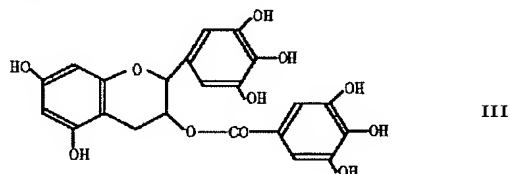
を示す。)

## 【化3】



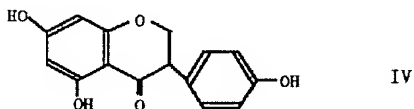
【請求項2】 カテキン類が、一般式IIIで表わされるエビガロカテキンガレートである請求項1記載の抗癌剤。

## 【化4】



【請求項3】 イソフラボン類が、一般式IVで表わされるゲニステインである請求項1記載の抗癌剤。

## 【化5】



## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、カテキン類とイソフラボン類を有効成分とする抗癌剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 抗癌剤を用いた癌の化学療法は、外科的な療法や放射線を用いた療法と並んで癌治療の重要な柱であるが、次のような問題点がある。すなわち、1) 癌細胞のみに選択的に作用する化学物質は皆無で、ほとんどの抗癌剤は正常細胞にも様々な影響を及ぼすことから、患者に深刻な副作用が現れる。2) 癌細胞は非常に

多様性があり、一つの腫瘍ですら抗癌剤に対して様々な感受性を持つ癌細胞が存在する。したがって、1種類の抗癌剤だけで体内の癌細胞を完全になくすことは非常に困難である。これら化学療法の問題点を克服するため、新たな抗癌剤を開発するだけでなく、既存の抗癌剤を組み合わせることにより適用できる癌の種類を広めたり、それらの抗癌効果を相乗的に高める努力が現在も続けられている。

【0003】ところで、カテキン類が抗癌効果を有することは以前から知られている。例えば、特開昭60-190719号公報には(一)エビガロカテキンガレートが動物の移植癌に対して制がん効果を有することが記載されている。また、特開平4-264027号公報には茶ポリフェノール類がラットにおけるアゾキシメタン誘発大腸癌の発生を抑制することが記載されている。また、イソフラボン類が抗癌効果を有することも既に知られており、特開昭61-246124号公報にはイソフラボン類であるゲニステインが各種癌細胞の増殖を阻止することが記載されている。しかし、カテキン類やイソフラボン類の抗癌効果については、適用できる癌の種類や実際の効果などまだ不明な点が多く、現在も実用化には至っていない。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、優れた効果を有し、かつ副作用が少ない抗癌剤を提供することにある。

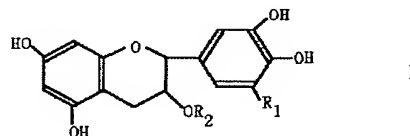
## 【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、前記課題を解決すべく鋭意研究を行った結果、カテキン類とイソフラボン類を組み合わせる使用することにより、それぞれ単独では全く効果を発揮し得ない濃度においても顕著な抗癌効果を発揮することを究明し、これらの知見を基にして本発明を完成した。

【0006】すなわち請求項1記載の本発明は、一般式Iで表わされるカテキン類と一般式IIで表わされるイソフラボン類を有効成分とする抗癌剤である。

## 【0007】

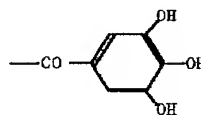
## 【化6】



(式中、R<sub>1</sub> はH又はOHを表わし、R<sub>2</sub> はH又は

## 【0008】

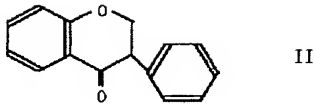
## 【化7】



を示す。)

【0009】

【化8】

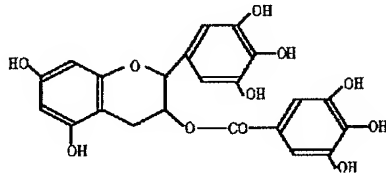


II

【0010】請求項2記載の本発明は、カテキン類が、一般式IIIで表わされるエピガロカテキンガレートである請求項1記載の抗癌剤である。

【0011】

【化9】

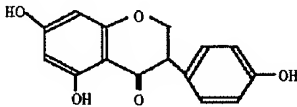


III

【0012】請求項3記載の本発明は、イソフラボン類が、一般式IVで表わされるゲニステインである請求項1記載の抗癌剤である。

【0013】

【化10】



IV

【0014】

【発明の実施の形態】本発明におけるカテキン類とは、主にツバキ科植物、とりわけ茶樹（*Camelliasinensis*）の葉、茎などに多く含まれるカテキン類で、基本構造は前記一般式Iに示した通りである。具体的な化合物としては、エピカテキン、エピカテキンガレート、エピガロカテキン、エピガロカテキンガレート、ガロカテキンなど（異性体を含む）などがある。このうち、一般式IIIで表わされる（-）-エピガロカテキンガレート（EGCG）は茶樹の葉や茎に含まれるカテキン類の約半分（重量換算）を占める。本発明における茶カテキン類としては、効果の面からこのEGCGが最も好ましい。

【0015】本発明においては、該カテキン類を含有する植物、特に茶樹の葉、茎、木部、根、実、あるいは茶樹の葉や茎を飲用に加工した緑茶、紅茶、プアール茶、ウーロン茶、包種茶等をそのまま利用することができるが、これらを水、熱水、有機溶媒、含水有機溶媒などにより抽出して得た抽出物や、さらにカテキン類の純度を高めた精製物を利用することもできる。また、カテキン類は合成品であっても全く差し支えない。

【0016】本発明で使用するイソフラボン類は、前記の一般式IIに示した基本構造を有する化合物の総称である。該化合物の具体例としては、ダイゼイン、ホルムオノネチン、ゲニステイン、ブルネチン、アフロモシン、

イリゲニンなどを挙げることができる。これらはマメ科、アヤメ科、バラ科などの植物に含まれている。本発明においては、これらイソフラボン類のうち、一般式IVで表わされるゲニステインが最も好ましい。

【0017】本発明においては、上記イソフラボン類を含む植物自体を利用することができるが、これらを水、熱水、有機溶媒、含水有機溶媒などにより抽出して得た抽出物、さらにイソフラボン類の純度を高めた精製物も利用することができる。例えば、ダイズの種子から公知の方法によりイソフラボン類を含む抽出液を得、さらにゲニステインやダイゼインを所望の純度に精製することができる。また、ゲニステインやダイゼインといったイソフラボン配糖体を多く含む植物の抽出液にβ-グルコシダーゼなどを作用させることにより、これらをゲニステインやダイゼインなどのイソフラボンアグリコンに変換して利用することもできる。また、本発明で使用するイソフラボン類は合成品であっても全く差し支えない。

【0018】本発明に係る抗癌剤は、カテキン類とイソフラボン類を有効成分とするものであり、それぞれ単独では効果が発揮されないような低濃度においても、顕著な抗癌効果を奏することができる。抗癌剤中におけるこれらの好ましい濃度については、抗癌剤の形態、投与方法、一回の投与量、適用される癌の種類等によって異なる。従って、抗癌剤中のカテキン類及びイソフラボン類の濃度は、目的や状況に応じて適宜調節する。敢えて、その目安を例示すれば、カテキン類としてEGCGを用いる場合、癌細胞に作用する濃度として0.005μg/ml以上、好ましくは0.01μg/ml以上が確保できるように使用濃度を調節する。一方、イソフラボン類としてゲニステインを用いる場合、癌細胞に作用する濃度として0.1μg/ml以上、好ましくは2μg/mlが確保できるように使用濃度を調節する。また、カテキン類及びイソフラボン類としてその他の物質を使用する場合にも、これらの濃度を参考にして使用濃度を適宜調節すればよい。なお、本発明の抗癌剤には、目的等に応じてさらに別の1種もしくは2種以上の抗癌剤と併用することができ、その際併用する抗癌剤の種類は特に限定されない。

【0019】本発明に係る抗癌剤は、あらゆる癌に対して適用可能であるが、特に前立腺癌に有効である。本発明品は錠剤、液剤、カプセル剤、粉剤、顆粒剤などの様々な形態で、経口的に投与することができる。また、注射剤、軟膏剤などの形態で利用することも可能である。それぞれの製剤には、目的に応じて各種担体や賦形剤等を用いることができる。

【0020】また、本発明の抗癌剤の有効成分として用いるイソフラボン類やカテキン類はヒトが長年食物もしくは飲料として利用してきた植物中に含まれる成分であり、本発明品を経口摂取する限りにおいて、その安全性は長年の食経験により実証されている。したがって、本

発明品は癌の治療剤として使用するだけでなく、健康人が癌の予防を目的として日常的に経口摂取することも可能である。その際には、カテキン類とイソフラボン類の混合物をそのまま摂取することもできるが、これらを食料品、飲料、健康食品等に添加することにより、一層容易に、かつ日常的に本発明品を摂取することができる。

#### 【0021】

【実施例】以下に本発明を試験例及び実施例により説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0022】試験例1：ヒト前立腺がん細胞の前培養  
ウシ胎児血清10%及び10000U/mlのペニシリンと10mg/mlのストレプトマイシンをそれぞれ含むDMEM培地(Dulbecco's Modification ofEagle's Medium) (Mediatech Inc., Herndon, VA)中に懸濁したヒト前立腺がん細胞(PC-3細胞)(American Type Culture Collection, Rockville, MD)0.2mlを96wellマイクロプレートに播種し( $2.56 \times 10^4$  cells/well)、37℃、5%CO<sub>2</sub>、雰囲気下で培養した。

【0023】試験例2：細胞増殖活性の測定(MTT法)

96wellマイクロプレートにて培養したPC-3細胞を、マイクロプレートごと1800rpmで5分間遠心した後、吸引ホースの先に取り付けたピペットチップによって各wellから培地を取り除いた。次に、それぞれのwellにMTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)を500μg/ml含む上記DMEM培地100μlを加え、37℃で4~6時間培養した。その後、上記の方法で各wellから培地を取り除き、それぞれのwellにDMSOを150μl加えた。マイクロプレートを10分間振蕩した後、マイクロプレートリーダー(Vmax, Molecular Devices Corp., Sunnyval, CA)を用いて540nmの吸光度を測定することにより細胞増殖活性を測定した。

#### 【0024】実施例1

試験例1に示した方法によりPC-3細胞の前培養を行った後、上記の方法で各wellから培地を取り除いた。次に、EGCG(純度98%以上、三井農林(株)製)0.01、0.012、0.015、0.0175、0.02、0.04、0.06又は0.4μg/ml及び/又はゲニステイン(Sigma Chemical Company, St Louis, MO)2μg/mlを含むDMEM培地(試験例2)0.2mlをwellに加え、37℃、5%CO<sub>2</sub>、雰囲気下で72時間培養した。培養終了後、細胞増殖活性を試験例2の方法により測定した。結果を図1に示した。なお、各処理区の細胞増殖活性は、対照を100とした場合の相対値で示した。ゲニステイン2μg/ml又は各濃度のEGCGをそれぞれ単独で添加した場合、細胞増殖活性は対照区とほぼ同じレベルであったが、ゲ

ニステイン2μg/mlと各濃度のEGCGを添加した場合の細胞増殖活性は対照区の50~70%であった。

【0025】以上の結果から、EGCGとゲニステインを組み合わせることにより、それぞれ単独では効果が発揮されない低濃度においても、顕著な癌細胞増殖抑制効果が発揮されることが明らかになった。

#### 【0026】実施例2

体重20~25gの6週齢マウス(雄)を4匹ずつ2群に分け、これらマウスには、それぞれ滅菌した水と市販の飼料を自由に摂取させた。PC-3細胞( $1 \times 10^6$ /DMEM 0.1ml + matrigal 0.1ml)を両脇腹上部に皮下注射してから3日後に、EGCG0.03mg及びゲニステイン0.5mgを腹腔内に注射した。さらに、試験期間中EGCGとゲニステインを同様の方法で3回/週投与した。

【0027】腫瘍はノギスで幅、長さ、深さを計測し、その大きさは次式により計算した。

腫瘍の大きさ=長さ×幅×深さ×0.52

PC-3細胞を移植してから40日目における腫瘍の大きさは、対照区が平均で488mm<sup>3</sup>であったのに対し、EGCGとゲニステインの混合物を投与した区は平均で178mm<sup>3</sup>であった。これらの結果から、本発明品は生体においても癌細胞の増殖を顕著に抑制できることが確認された。

#### 【0028】

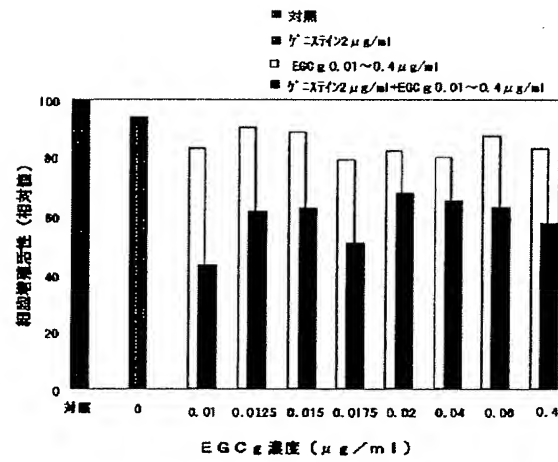
【発明の効果】本発明の抗癌剤は、カテキン類とイソフラボン類を組み合わせ有効成分として用いたことにより、それぞれ単独では効果が発揮されない極めて低い濃度においても顕著な抗癌効果を発揮することができる。本発明により、それぞれ単独での抗癌効果は知られているものの、未だ抗癌剤として実用化には至っていないカテキン類及びイソフラボン類の適用範囲を飛躍的に広めることができる。しかも、それぞれを非常に低濃度で使用できることから、予期しない副作用の危険性を大幅に低減することができる。

【0029】このように、本発明はカテキン類及びイソフラボン類の抗癌剤としての実用化に大きく貢献するものである。また、本発明品における有効成分は、ヒトが長年にわたり食用もしくは飲用として利用してきた植物に含まれる成分であり、本発明品を経口摂取する限りにおいて、その安全性は長年の食経験により実証されている。したがって、本発明品は、癌患者が治療剤として使用するだけでなく、健康人が癌の予防を目的として日常的に経口摂取することも可能である。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】 実施例1における各処理区の細胞増殖活性(相対値)を示すグラフである。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 原 征彦  
静岡県藤枝市南駿河台2-2-7

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 BA08 MA02 MA04  
NA05 NA06 ZB26 ZC75  
4C088 AB45 AC04 AC05 AC06 AC11  
BA32 CA03 CA11 MA07 NA05  
NA06 ZB26 ZC75